

Aus dem Hygiene-Institut
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz
(Direktor: Professor Dr. H. Kliewe)

**Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Frage
der Entstehung und Verhinderung
der Keimpersistenz**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
Helmut Kirsten
aus Breslau

Mainz 1961

Aus dem Hygiene-Institut
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz
(Direktor: Professor Dr. H. Kliewe)

**Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Frage
der Entstehung und Verhinderung
der Keimpersistenz**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
H e l m u t K i r s t e n
aus Breslau

Mainz 1961



Dekan:

Professor Dr. H. Bredt

Referent:

Professor Dr. E. v. Wasielewski

Korreferent:

Professor Dr. H. Kliewe

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	5
1. Definition des Begriffes	5
2. Die praktische Bedeutung der Persistenz	6
3. Die Rolle einzelner Faktoren bei der Aufrechterhaltung der Persistenz	8
Methodik	11
1. Tiermaterial	11
2. Infektion	11
3. Therapie	12
Ergebnisse	14
Versuche 1-2 (Tabelle)	15
Versuche 3-6 (Tabelle)	15
Diskussion	17
Zusammenfassung	22
Literaturverzeichnis	23
Lebenslauf	hinter 32



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung

Das bei der antibiotischen Behandlung von Infektionskrankheiten immer noch vorherrschende Problem ist das der Bakterienresistenz; und erst in zweiter Linie interessieren die pharmakologischen Nebenwirkungen der Antibiotika, ihre Wirkung auf die Immunitätslage des Organismus u. ä.

Am wenigsten Aufmerksamkeit ist jedoch bisher der Frage zugewandt worden, inwieweit ein keimspezifisches wirksames Antibiotikum bei adäquater Dosierung in der Lage ist, eine *vollständige* Beseitigung der betreffenden Bakterien zu erreichen, d. h. sie in vivo soweit unschädlich zu machen, daß sie von der körpereigenen Abwehrmechanismen eliminiert werden können.

Eine Reihe von Beobachtungen, die während der letzten 15 Jahre bei der Behandlung von Infektionskrankheiten gemacht wurden, zeigten, daß Rezidive auch nach einer über ausreichend lange Zeit adäquat durchgeführten Therapie auftreten können. Derartige Rückfälle waren dann nicht etwa durch eine Prädominanz selektionierter resistenter Bakterienpopulationen entstanden, sondern stellten echte endogene Reinfektionen mit den gleichen und noch ebenso antibiotikaempfindlichen Bakterienstämmen dar — sieht man einmal von den seltenen exogenen Reinfektionen ab. Gelegentlich kam es nicht zur offenen Reinfektion, sondern zu Keimträgerphänomenen, wobei allerdings die Virulenz der betreffenden Bakterien außerhalb des Trägerorganismus unverändert erhalten blieb.

1. Definition des Begriffes

Bigger (11, 12), der sich zum ersten Male (1944) eingehender mit diesen Fragen beschäftigte, nannte solche Bakterien, die eine spezifisch gegen sie gerichtete Therapie zu überleben vermögen, „persisters“. Diese „persisters“ besitzen die gleiche Resistenz und Virulenz wie ihre Parentalgeneration.

Man wird aber, wie sich im folgenden zeigen wird, den Begriff der Keimpersistenz weiter fassen und auf alle Erscheinungen ausdehnen müssen, bei denen nach Ablauf einer klinisch manifesten Erst- oder stummen Infektion pathogene Keime im Organismus lebend verbleiben und jederzeit zu Krankheitserscheinungen Anlaß geben können (aber nicht müssen).

Einer solchen Ansicht steht die von *Simon* (120) gegenüber, die nur solche Infektionen als *persistierend* ansieht, die von einer klinisch in Erscheinung getretenen Erstinfektion gefolgt sind. Derselbe Autor grenzt hiervon das *Keimträbertum* ab, das — bei abgeschwächter Virulenz des Keims für den Träger — ohne offene Erstinfektion vorhanden ist, und die *Latenz*, die mit einer definitiven Änderung von Keimeigenschaften (Morphologie, Physiologie, Biochemie) und einer Änderung der Reaktivität des Wirtsorganismus einhergeht. *McDermott* (91) faßt alle diese Phänomene unter dem Begriff der „inapparenten Infektion“ zusammen, *Simon* (120) benutzt hierfür den Ausdruck „attenuated (hintangehaltene) Infektion“.

Im folgenden wird sich zeigen, daß sich die angeführten Begriffe nicht scharf voneinander trennen lassen.

2. Die praktische Bedeutung der Persistenz

Persistenzphänomene sind z. B. aus der Klinik des Fleckfiebers bekannt; man nennt hierbei die Reinfektion *Brill-Zinsser'sche* Krankheit [Weyer (151)]. Ein weiteres Beispiel ist der Herpes labialis, der bei manchen Individuen anlässlich einer Affektion der oberen oder tieferen Luftwege rezidiert. Experimentell ließen sich solche „persisters“ bei Streptokokken [Denny und Thomas (24), Thomas (137), Raska und Rotta (109)], Staphylokokken [Smith und Dubos (126), Smith (125)], Candida [Young (158)] und Corynebakterien [Le Maistre und Tompsett (73)] Infektionen nachweisen. Wichtig war, daß sich die entsprechenden Reinfektionen nur dann auslösen ließen, wenn das „milieu interieur“ des Organismus gestört wurde, etwa durch Verabreichung von Cortison (24, 137, 73), durch Änderung der Ernährung [s. hierzu Schaedler und Dubos (114)] oder der Stoffwechsellage [Dubos (29)].

Im folgenden werden wir uns — in Anlehnung an die Fragestellung des experimentellen Teils dieser Arbeit — vorwiegend mit den nach antibiotischer Behandlung aufgetretenen Persistenzphänomenen beschäftigen.

McDermott, der mit seinem Forschungsteam [5, 9 — 10, 73, 81 — 87, 88 — 92, 139 — 142] seit einigen Jahren das Persistenzproblem bearbeitet, unterscheidet zwischen zwei Arten persistierender Infektionen: Die ruhende (dormant) Infektion ist dadurch charakterisiert, daß die „persisters“ jederzeit mit den üblichen bakteriologischen bzw. virologischen Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden können, ohne daß sie eine Krankheit auslösen, während die verborgene (latent) Infektion diesen Nachweismethoden entgeht und ihr Vorhandensein nur aus dem erneuten Ausbruch derselben Krankheit geschlossen werden kann (91). So soll z. B. eine Streptokokken-Angina nach Penicillinbehandlung in das Latenzstadium, nach Sulfonamidgaben in das Ruhestadium übergehen können (82).

Im Tierexperiment wurden solche Persistenzen bei Infektionen mit Staphylokokken [Gowans (49), Sellers und LeMaistre (118), McCune et al. (83, 86)], haemolisierenden Streptokokken [Gowans (49), Eagle et al. (36) Foley (43), v. Wasielewski et al. (147)], Pneumokokken [Gowans (49), Smith und Wood (127, 155), Tularämie- Ransmeier (108)] und Tuberkelbakterien [McCune et al. (81, 82, 84 — 86), Peizer et al. (101), Djuricic und Drndarski (25)] beobachtet. Einzig bei gewissen Shigellen und Neisserien scheint es keine Persistenz zu geben [McDermott (89)]. So können beispielsweise Meningokokken durch Sulfonamidgaben in 1—2 Tagen aus dem Pharynx für dauernd entfernt werden [McLeod (78)]. Einige der oben genannten Autoren (43, 81 — 86, 147) konnten nachweisen, daß „persisters“ unabhängig von Art und Dosierung des verwendeten Antibiotikums bei derselben Infektion relativ konstant auftreten.

Die Bedeutung dieses Phänomens wird schon aus den wenigen angeführten Beispielen deutlich. Einmal besteht immer die Möglichkeit einer endogenen Reinfektion, wenn ein Keim im Organismus persistieren kann. Derartige Fälle sind z. B. aus der Tuberkulosepathologie bekannt: In einem kalzifizierten Herd „liegendebliebene“ Tuberkelbakterien können später wieder eine Reinfektion auslösen [vgl. hierzu *Hobby et al.* (54)]. Nach *McDermott* (91) beherbergen 40 % der über 30 Jahre alten Bevölkerung der USA lebende Tuberkelbakterien. Ferner sei an die rezidivierenden Tonsillitiden [*Plummer et al.* (105), *Ström* (134), *Walker* (144)] und an die Endocarditis lenta erinnert, bei der *Dawson* und *Hunter* (23) 10 — 40% Rezidive beschrieben haben.

Das Problem der Keimträger wurde bereits erwähnt. Wir erinnern hier nur an den Typhusbakterienausscheider, der nach *McDermott* (89) „persisters“ beherbergt, und an den Psittakose-Virusträger [*Meyer und Eddie* (93)]. Auch bei Streptokokken-Anginen ist über die Persistenz haemolisierender [*Rammelkamp und Kirby* (107)] und nicht haemolisierender [*Smith* (128)] Streptokokken nach Penicillintherapie berichtet worden.

Ferner liegen Anzeichen dafür vor, daß bei chronisch gewordener Infektionen persistierende Keime eine Rolle spielen können. So ist z. B. Penicillin beim Morbus Weil zum Zeitpunkt der Leberbeteiligung nicht mehr voll wirksam [*Dubos* (29)]; und bei der Lues steigt die Zahl der Therapieversager signifikant an, wenn der Behandlungsbeginn bis zum Ausbruch des 2. Stadiums verschoben wird [*Bauer et al.* (6)]. Die experimentelle intraperitoneale [*Jawetz* (59)] bzw. intramuskuläre [*Eagle* (36)] Streptokokkeninfektion der Maus ist bei verzögert einsetzender Penicillin-Therapie weit-
aus schwerer zu beeinflussen als sofort nach Beginn der Infektion.

Andererseits zeigten Veröffentlichungen amerikanischer Autoren, daß Patienten, die entweder (nach entsprechender Exposition) prophylaktisch oder sofort nach klinisch manifestem Ausbruch einer Infektionskrankheit antibiotisch behandelt wurden, häufiger nach Absetzen der Therapie an derselben Infektion erkrankten als solche Patienten, die erst während des Verlaufs der Krankheit zur Behandlung kamen. Diese Patienten mußten also „persisters“ beherbergt haben. Entsprechende Beobachtungen wurden für die Malaria [*Coggeshall et al.* (18)], das Q-Fieber [*Tigertt und Benenson* (138)], das Tsutsugamushi-Fieber [*Smadel et al.* (120—123)] den Typhus [*Woodward et al.* (156)] und die Lues [*McDermott* (89)] mitgeteilt, wobei der letztgenannte Befund offenbar in Widerspruch zu den Untersuchungen von *Bauer et al.* [(16) s. o.] steht. Unter diesem Blickpunkt erwies sich dann auch die Chemoprophylaxe gewisser Erkrankungen als nur partiell effektiv, d. h. ihre Wirkung währte nur so lange, wie das Antibiotikum gegeben wurde — eine Beobachtung, die vor allem auf dem Gebiet der Tuberkuloseprophylaxe gemacht wurde [*Peizer et al.* (101), *Schmidt* (117), *McDermott* (90), *Bartmann et al.* (4), *LeLong et al.* (72)] [Säuglinge tuberkulöser Mütter].

3. Die Rolle einzelner Faktoren bei der Aufrechterhaltung der Persistenz

Wir müssen uns also fragen, welche Faktoren das Überleben der „persisters“ im Organismus ermöglichen. Es wurde schon erwähnt, daß Persistenzphänomene unabhängig von der Art des Bakteriums, des Antibiotikums und dessen Dosierung [vgl. hierzu auch *McDermott* (88)] sowie von der antibiotischen Sensibilität auftreten. Man muß demnach annehmen, daß das den Keim umgebende Milieu (zu dessen Bestandteilen auch das Antibiotikum gehört) entweder den Zutritt des Antibiotikums zum Keim verhindert bzw. es inaktiviert oder daß es den Keim so beeinflusst, daß er für eine gewisse Zeit unempfindlich wird — so lange nämlich, bis sich etwas im Milieu ändert, was sein „Heraufkommen“ wieder ermöglicht.

Im folgenden werden wir die Bedeutung einzelner Faktoren für das Zustandekommen der Persistenz untersuchen.

Die häufig geäußerte Annahme, nekrotisches oder fibröses Gewebe verhindere das Eindringen antibiotischer Substanzen und begünstige damit das Verbleiben pathogener Bakterien in diesen Herden, wurden von *Werner et al.* (150) sowie von *McCune* (87) experimentell widerlegt. Die Autoren verbrachten zentral infizierte Agarscheiben in die Bauchhöhle von Kaninchen und beobachteten, daß diese Infektionsherde sowohl kurz nach der Implantation als auch nach Ausbildung einer peripheren Fibrose vollkommen durchgängig von parenteral verabfolgten Penicillin, Streptomycin (!), Cloromycetin und Aureomycin erreicht wurden. In den Versuchen von *Darnell et al.* (21) konnten derartige Herde nur bei verzögert (12 h post-implantationem) einsetzender Therapie nicht mehr sterilisiert werden, obwohl Penicillin nachweislich in genügender Menge in sie diffundierte. Analoge Beobachtungen wurden bei der Untersuchung nekrotischer Herde bei Pneumokokken [*Wood und Smith* (127, 155)] und Streptokokken- [*Daikos und Weinstein* (20)] Infektionen erhoben. *Barclay et al.* (3), *Canetti und Koch-Weser* (68) hatten z. T. mittels radioaktiv markiertem INH (C^{14}) die Diffusion von Tuberkulostatika in tuberkulösen Herden nachweisen können. Die Tatsache, daß „persisters“ im Rachenraum (s. o.) und in der Milz (*McCune et al.* (81—83), *Sellers und LeMaistre* (118)) gefunden wurden, zeigt, daß eine Persistenz auch in gut durchbluteten Geweben möglich sein kann.

Man hat ferner die Möglichkeit diskutiert, daß eine Diffusion der Antibiotika in das intrazelluläre Milieu nur schwer möglich sei und daß phagozytierte Bakterien infolgedessen intrazellulär überleben könnten. Es ist bekannt, daß intrazelluläre Bakterien antibiotisch weitaus schwerer als extrazellulär gelagerte Keime zu beeinflussen sind, wie an Staphylokokken [*Baker* (1), *Kapral und Shayegani* (64)], Gonokokken [*Thayer et al.* (136)], Brucellen [*Magoffin und Spink* (79), *Shaffer et al.* (119)] und Tuberkelbakterien [*Mackaness und Smith* (77)] nachgewiesen wurde [neuere Zusammenfassung hierzu bei *Smadel* (124)]. *Eagle* (39) zeigte jedoch, daß von einer Penicillinlösung ca. 63% in HeLa-Zellen und Mäusefibroblasten diffundierten und *Tompsett* (141—142) sowie *Rogers und Tompsett* (112) beobachteten, daß bei der experimentellen Staphylokokkeninfektion eines mit Leukocyten versetzten Blutplasmas die Überlebensrate von 10% intrazellu-

lären (gegenüber 0,01 % extrazellulären) Keimen auch bei einer Dosis von 100 E/ml Penicillin und bei Verwendung artefiziell zerstörter Leukocyten gleichblieb.

Die gute Beeinflussbarkeit intrazellulärer Infektionen wie Tularämie und M. Bang durch das als schlecht diffusibel bezeichnete Streptomycin spricht ebenfalls dafür, daß dem Diffusionsfaktor keine entscheidende Bedeutung in diesem Zusammenhang zukommt.

Nekrose und intrazelluläres Milieu können also als „persistenzbegünstigend“ bezeichnet werden.

Bisher ist auch noch kein Beweis für die Hypothese erbracht worden, daß das umgebende Milieu das Antibiotikum zu inaktivieren vermag — etwa infolge seines pH [hierzu *McDermott* und *Tompsett* (92)] oder durch Bindung des Antibiotikums an Proteine (s. *Tompsett* et al. (139—140)). Letztere kann zwar bei Penicillin bis zu 50% der injizierten Gesamtmenge betragen, ist jedoch reversibel und könnte die Diffusion bei hoher Dosierung nicht beeinträchtigen; und die Beobachtungen über Wirkungsänderungen von Antibiotika bei verschiedenem Gewebs-pH lassen sich ebensogut als Milieuwirkungen auf den Keim interpretieren. Daß eine solche tatsächlich vorliegt, konnten *Mitchison* und *Selkon* (95) zeigen: Streptomycin greift Bakterien, die in aerobem Milieu gleiche Empfindlichkeit aufweisen, in anaerobem Milieu *verschieden* stark an. Nach *Williamson* (152) wirkt Dihydrostreptomycin gegenüber *E. coli* in anaerobem doppelt so stark wie in aerobem Milieu bei einem pH von ≤ 7 ; gegenüber *Aerobacter aerogenes* zeigt sich dieses Phänomen jedoch nur bei einem pH von > 7 .

So wird auch die Tatsache des unterschiedlichen Effekts eines Antibiotikums in verschiedenen Organen als ein Effekt des Milieus auf den Keim und nicht auf das Antibiotikum verständlich. Z. B. wird die Keimzahl in der Milz bei der experimentellen *Staphylokokkeninfektion* der Maus durch gleichzeitig verabfolgtes Streptomycin stärker gesenkt als bei nicht oder mit Penicillin behandelten Tieren, während sie bei der experimentellen *Mäuse-Tuberkulose* durch Streptomycin oder INH nur wenig beeinflusst wird [*McCune* et al. (81, 83), *McCune* (86), *Kosunen* (69), *Sellers* und *LeMaire* 118)]. In der Niere ließ sich ein unterschiedlicher Effekt desselben Antibiotikums gegenüber Staphylokokken je nach Vorhandensein oder Abwesenheit von Abzessbildungen nachweisen [*McCune* et al. (83)].

Man muß also annehmen, daß in den genannten, mit Persistenzphänomenen einhergehenden Fällen das umgebende Milieu tatsächlich den Keim so zu beeinflussen vermochte, daß er „drug-indifferent“ *McDermott* (89) wurde. Diese Beeinflussung *entspricht* etwa dem Effekt, den man bei der Einwirkung verschiedener Temperatur auf Bakterien beobachten kann: setzt man z. B. einer A-Streptokokkenkultur bei $+ 4^{\circ}\text{C}$ Penicillin zu, so ändert sich an ihrer Keimzahl (die sich auch ohne antibiotischen Zusatz nur langsam ändert) nichts. Bei $+ 37^{\circ}\text{C}$ jedoch fällt entweder diese Zahl — nämlich unter Penicillineinwirkung in der log. Wachstumsphase — oder sie steigt, wenn kein antibiotischer Zusatz erfolgt (89). Damit erhebt sich die Frage, in welcher Weise Milieu und Keim zur Herbeiführung dieses Status des „play-

ing dead“ [McDermott (89)] beitragen und inwieweit sie eine Änderung durchmachen müssen, damit das erreichte Gleichgewicht — denn um ein solches handelt es sich — gestört wird und damit einer Reinfektion den Weg ebnet.

Bereits in der ersten Zeit der Penicillin-Aera machten *Hobby et al.* (51) an Streptokokken und *Bigger* (11, 12) an Staphylokokken die Beobachtung, daß es unmöglich war, eine penicillinempfindliche Kultur durch Zugabe dieses Antibiotikums in vitro zu sterilisieren; ein geringer Prozentsatz (ca. 1%) der Bakterien blieb am Leben. *Bigger* (11) nannte diese Populationen „persisters“. Ähnliche Befunde wurden später noch mehrfach erhoben [*Hobby* und *Dawson* (52, 53), *Chain* und *Duthie* (17), *Parker* und *Marsh* (99), *Spicer* und *Blitz* (133), *Linz* und *Lecocq* (74) u. a. auch bei Einwirkung von Chloromycetin [*Valentine* (143)], Terramycin [*Klein* (66)] und Tuberkulostatika [*Hobby* und *Lenert* (56).]

Man brachte diese Tatsachen zunächst mit den Wirkungsmechanismen der Antibiotika in Verbindung, von denen man 2 Typen zu unterscheiden glaubte: Bakteriostase (einfacher Generationsstop) und Bakterizidie (progressive Dezimierung der Kultur bis zur vollständigen Abtötung). Es zeigte sich aber später, daß diese Unterschiede nur quantitativer Art waren, da eine Abhängigkeit des Wirkungsmechanismus von der Dosis bestand: In niedrigen Konzentrationen erwiesen sich nämlich sozusagen alle Antibiotika als bakteriostatisch [*McLeod* (78), *Davis* (22), auch die sonst als „bakterizid“ klassifizierten Mittel wie Penicillin und Streptomycin, deren bakterizider Effekt sich erst in höheren, im Organismus wahrscheinlich meist nicht erreichten Konzentrationen entfaltete. Man diskutierte auch verschiedene Angriffspunkte bei Bakterizidie und Bakteriostase [*Klein* (66)].

Da andererseits in vivo viele Infektionen regelrecht beseitigt werden können, ohne daß „persisters“ zurückbleiben, interessiert den behandelnden Arzt weit eher die Frage, ob ein Antibiotikum in vivo den Keim zu beseitigen oder ob es ihn nur zu unterdrücken vermag. Die Frage nach der in-vitro-Bakterizidie bzw. — Bakteriostase (89) ist demgegenüber von untergeordneter Bedeutung.

Es ließ sich zeigen, daß die Wirkung eines Antibiotikums verschieden ist je nachdem, ob es auf proliferierende und stoffwechselaktive oder auf nicht proliferierende, mehr oder weniger stoffwechselinaktive („ruhende“) Keime einwirkt wie bereits an oben angeführten Beispiel der Temp. demonstriert wurde. Die meisten Antibiotika, voran das Penicillin, entfalten nämlich ihre Wirkung in vitro und in vivo nur gegenüber der erstgenannten Bakteriengruppe [*Hobby* und *Dawson* (52), weitere Literatur s. bei *Hobby* (55)]. Ähnliches gilt für die Tuberkulostatika [*Schaffer* (115), *Hobby* und *Lenert* (56) und *Koch-Weser* (68)]. Eine Ausnahme machen Streptomycin, das nicht unbedingt Wachstum, jedoch einen aktiven Bakterienstoffwechsel für seine Wirkung benötigt [*Davis* (22)], sowie Thyrotricin und Polymyxin B [*Lommel* (76)]. Desinfizientien hingegen sind auch ohne die genannten Keimeigenschaften wirksam. Bezüglich der Zusammenhänge zwischen Stoffwechsel und Wachstum bei der Antibiotikawirkung sei auf *Wyss* (157 verwiesen.)

Methodik

1. Tiermaterial

Versuchstiere waren männliche weiße Mäuse im Gewicht von 18-22 g. Ein Kollektiv enthielt 7 Tiere (Ausnahme: Versuch 3 = 6 Tiere). Als Infektionskeim diente *Streptococcus Aronson* (serol. Gruppe B), dessen Virulenz wir durch fortlaufende Tier- und Nährbodenpassagen konstant zu halten versuchten. Pro Tier wurden 0,5 ml einer mit 0,9% NaCl verdünnten, 16 h alten Traubenzuckerbouillon-Kultur i. p. injiziert.

2. Infektion

Die genannte Infektion wurde aus folgendem Grunde gewählt (s. auch 146):

- 1) *Streptococcus Aronson* ist gegen die meisten üblichen Antibiotika konstant empfindlich; insbesondere sind Pc-resistente Varianten noch nicht beobachtet worden. Insofern konnte die Entstehung eines Rezidivs nach Absetzen der Behandlung nicht auf eine Entwicklung resistenter Stämme zurückgeführt werden.
- 2) Die relative Konstanz des Infektionsablaufs ermöglicht eine gute Beurteilung der Wirkung unspezifischer und spezifischer Heilmittel.

In unseren Versuchen diente als konstant verwendetes Antibiotikum Penicillin-G-Natrium Hoechst, 50 000 IE pro Ampulle) in der auch in früheren Versuchen (146) angewandten Dosierung von 150, 200 und 300 IE pro kg/Tag (s. Tab. 1). Zusätzlich wurden entweder resistenzbeeinflussende Substanzen (einmalig, nur Cortison mehrmalig) oder Antibiotika (mehrmalig) appliziert. Zur Kontrolle dienten Kollektive, die nicht mit Pc behandelt wurden. Die Beobachtungsdauer betrug pro Versuch insgesamt, vom Tag der Infektion an gerechnet, 16 Tage.

Peritoneum und Herzblut derjenigen Tiere, die während oder nach der Behandlung ad exitum kamen, wurden durch Ausstreichen (Blutplatte) auf Anwesenheit von haemolisierenden Streptokokken untersucht. In den Fällen, in denen sich der Infektionskeim nachweisen ließ, wurden stichprobenartig Prüfungen auf antibiotische Sensibilität gegen Penicillin im Agar-Diffusionstest und auf serologische Identität vorgenommen:

- 1) Resistenzbestimmung im Agardiffusionstest:
100 IE Pc/ml, Inoculum 1 Öse Keime.
Ablesung der Hemmhofzone nach 24 Stunden.
- 2) Serologische Identifizierung:
Technik wie bei *Hallmann* (50) angegeben.
Folgende Substanzen gelangten zur therapeutischen Anwendung:

3. Therapie

a) Antibiotika

Sämtliche verwendeten Antibiotika wurden i. m. verabfolgt und zwar pro die entweder einmal die gesamte (Vers. 1—5) oder zweimal die halbe (Vers. 6) Tagesdosis, jeweils in 0,2 ml steril. Aqua dest. gelöst. Die erste Injektion erfolgte 30 min. nach der Infektion. Die i. m.-Applikation erschien deshalb vorteilhaft, weil sie in der Praxis sehr häufig angewandt wird und einen konstanten Spiegel des Antibiotikums im Blut gewährleistet. Bei der Dosierung hielten wir uns an die der Erwachsenentherapie üblichen Größenordnungen. Die toxische Wirkung der Antibiotika war bereits in früheren Versuchen aus dem hiesigen Institut (147) als unerheblich erkannt worden; sie wurde deshalb nicht erneut geprüft. Bei den Versuchen mit Antibiotika-Kombinationen wurden folgende Substanzen gewählt, die gleichzeitig mit Penicillin jeweils an 7 (in Versuch 1 an 10) aufeinanderfolgenden Tagen injiziert wurden:

Dihydrostreptomycinsulfat („Farbenfabriken Bayer“ 50 mg-Ampulle) 15 mg/kg pro die,

Chloromycetin („Parke-Davis & Co.“, 1000 mg-Ampulle) 15 mg/kg pro die,

Terramycin (Kristallin „Pfizer & Co.“, 500 mg-Ampulle) 10 mg/kg pro die.

b) Unspezifisch resistenzbeeinflussende Substanzen

1) *Vaccine aus Salm. abortus equi* (Persistenz-Versuche 1 und 2). Eine 24 h alte Schrägagarkultur dieses Keimes wurde mit 10 ml steril. NaCl-Lösung + 0,5 % Phenol abgeschwemmt und die entstandene Suspension eine Stunde lang auf 60° C erhitzt. Die Prüfung auf Sterilität erfolgte nach gründlichem Aufschütteln durch Beimpfung von je 2 Traubenzucker- und Thioglykolat-Bouillonröhrchen mit einem Inokulum von jeweils 0,1 ml der Suspension und Kontrolle auf Trübung nach 24 h. Die Dichte einer derartigen sterilen Suspension betrug ca. $1-10 \times 10^8$ Keime pro ml, wie durch Auszählen in der Thoma-Zählkammer festgestellt wurde. Von dieser Vaccine wurden *einmalig* 0,2 ml pro Tier 16 h vor der Infektion i. p. appliziert.

2) *Vaccine aus Staphylococcus aureus SG 511* (Persistenz-Versuch 4). Die Herstellung und Verwendung geschah nach dem unter a) angegebenen Schema.

3) *Zymosan* (Persistenz-Versuche 1 und 2). Wir verwendeten die im Handel als Pulver erhältliche Präparation der Behring-Werke, Marburg-Lahn. Dosis: 10 (Vers. 3) bzw. 15 (Vers. 1 und 2) mg/kg Körpergewicht, suspendiert in steril. physiol. NaCl-Lösung. Applikationsart: pro Tier einmalig 0,2 ml i. p. 16 h ante infectionem.

4) *Pyrexal* (Persistenz-Versuch 3). Die Testsubstanz der Firma Dr. Wander GmbH., Frankfurt/M. wurde in der Dosierung 0,1, 1,0 und 10,0 y pro Tier, jeweils in 0,2 ml steril. Aqua dest. gelöst, verwendet. Die einmalige i. p.-Injektion erfolgte 24 h vor der Infektion.

5) *Cortison* (Persistenz-Versuche 4 bis 6) Zur Verwendung gelangten die kristallinen Präparationen Incortin, (Fa. Merck, Darmstadt) (Versuch 4) und Adreson (Fa. Organon GmbH., München) (Versuch 5). Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich, wurde die Dosierung so gewählt, daß jeweils 24 h vor, 72 h und 144 h nach der Infektion im Versuch 5 2,5, im Versuch 4 und 5 5,0, und im Versuch 5 10,0 mg/kg Körpergewicht, immer in 0,2 ml 0,45 % steril. NaCl-Lösung gelöst (Kochsalzretention!), i. m. appliziert wurden.

Ergebnisse

Alle Streptokokken-Stämme, die aus gestorbenen Tieren gezüchtet und auf ihre antibiotische Sensibilität geprüft wurden, erwiesen sich *in vitro* als gegen Penicillin und die übrigen verwendeten Antibiotika empfindlich. Ein Auftreten resistenter Stämme konnte somit nicht beobachtet werden. Die serologischen Identitätsprüfungen ergaben stets Streptokokken der Gruppe B. Sofern solche Keime *post mortem* nicht nachgewiesen werden konnten, sind die betreffenden Tiere aus den Kollektiven eliminiert worden.

Im folgenden werden 6 Versuche, die den kurativen Effekt einer Kombination von Penicillin mit den verschiedenen spezifischen und unspezifischen Mitteln untersuchen, einer getrennten Beobachtung unterzogen (s. Tabelle).

Die Auswertung und Protokollierung geschah in der Weise, daß die Einzeltiere jedes Kollektivs eingeteilt wurden in 1.) solche, die während der Behandlung starben, 2.) solche, die die Behandlungszeit überlebten und danach starben, die also — adäquate Behandlung vorausgesetzt — persistierende Keime beherbergt haben mußten und 3.) solche, die die Beobachtungszeit überlebten.

Daß das Überleben eines Versuchstieres nicht unbedingt einem Freisein von Infektionskeimen gleichkommt, hat *Bartmann* (4 a) für die experimentelle Tuberkulose nachweisen können. Gegenüber dieser eminent chronischen Infektion konnten wir jedoch unter Berücksichtigung des akuten Verlaufs der Streptokokkensepsis die Zahl der nach der Therapiezeit verstorbenen Tiere mit hinreichender Genauigkeit dem an persistierenden Keimen verstorbenen Anteil gleichsetzen.

Von einer vergleichenden Auswertung der Kollektive im Hinblick auf ihre Absterbequote oder -geschwindigkeit (= Reziprokwert der Überlebenszeit in Tagen x 100) wurde abgesehen, da diese Frage bei unseren Versuchen, die vielmehr darauf abzielten, die Persistenzquote zu verringern, weniger von Bedeutung war. Aus diesem Grunde wurde auch dem kurativen Effekt von Wirkungskombinationen nur geringere Beachtung geschenkt.

Einzig in den Fällen, bei denen sich Zweifel hinsichtlich einer signifikanten Wirkungsdifferenz zweier Therapieformen auf die Resistenzquote ergaben, verwandten wir statistische Methoden: Wir berechneten die „Persistenzquotienten“ als das Verhältnis zwischen überlebenden und an „persisters“ ad exitum gekommenen Tieren und verglichen sie nach dem sog. fourfold-contingency-test nach *Mainland* und *Murray* (80). Hierbei wurden die Zahlen sämtlicher, an allen verabfolgten Infektionsdosen verstorbener Tiere zugrundegelegt.

Zeichenerklärung

+ = im Behandlungszeitraum

P = nach Abschluß der Behandlung } gestorbene Tiere

X = nach Abschluß der Behandlung } überlebende Tiere

(Sofern post mortem keine oder andere Keime als haemolysierende Streptokokken (Bac. pyocyaneum) nachgewiesen wurden, haben wir diese Tiere zahlenmäßig in der mit x bezeichneten Reihe aufgeführt)

Versuche 1-2

Keimverdünnung	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x
1. Leerwert =							
NaCl : 0,7 ml	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	
Vorbeh. Vacc. (Salm. ab. equi) 0,2 ml/Tier	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	
Vorbeh. Zymosan 15 mg/kg	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	
PC 150 IE/Tier pro Tag	7 - -	6 - 1	3 1 3	3 1 3	7 - -	7 - -	
PC 150 IE/Tier + Vaccine	4 1 2	7 - -	3 3 1	4 1 2	3 - 4	2 2 3	
PC 150 IE/Tier + Zymosan 5 mg/kg	6 - 1	5 1 1	5 1 1	6 - 1	6 - 1	6 - 1	
2. Leerwert =							
NaCl: 0,2 ml		7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	6 - 1
Vorbeh. Vaccine 0,2 ml/Tier		7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -
Vorbeh. Zymosan 15 mg/kg		7 - -	7 - -	7 - -	6 - 1	7 - -	7 - -
PC 300 IE/Tier pro Tag		5 - 2	6 1 -	2 2 3	1 1 5	2 1 4	1 1 5
PC 300 IE/Tier + Vaccine		1 4 2	1 3 3	- 2 5	- 4 3	1 3 4	- 7 -
PC 300 IE/Tier + Zymosan 15 mg/kg		3 4 -	3 2 2	2 2 3	2 2 3	1 4 2	- 4 3

Versuche 3-6

3. PC 200 IE/Tier pro Tag	6 - -	2 - 4	2 - 4	- - 6	- - 6
PC 200 IE/Tier + Vaccine	2 - 4	- 2 4	- - 6	1 - 5	1 - 5
PC 200 IE/Tier + Zymosan 10 mg/kg	4 - 2	6 - -	5 - 1	1 1 4	1 - 5

Versuche 3-6 (Fortsetzung)

Keimverdünnung	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x	+ P x
PC 200 IE/Tier + Pyr. 0,1 y/Tier				3 1 3	3 1 3		
PC 200 IE/Tier + Pyr. 1,0 y/Tier				1 2 4	2 - 5		
PC 200 IE/Tier + Pyr. 10,0 y/Tier				1 1 5	1 1 5		
4. PC 300 IE/Tier pro Tag	7 - -	7 - -	4 - 3	5 1 1	5 2 -	2 1 4	
Vaccine (Staph. aureus)	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	7 - -	
PC 300 IE/Tier + Cortison 3 x 5 mg/kg	5 - 2	6 - 1	7 - -	5 1 1	5 - 2	1 2 4	
PC 300 IE/Tier + Vaccine	1 - 6	- 1 6	1 2 4	1 - 6	1 1 5	1 1 5	
5. PC 300 IE/Tier pro Tag		3 1 3	7 - -	5 1 1	4 1 2	3 1 3	
PC 300 IE/Tier + Cortison 3 x 2,5 mg/kg		5 1 1	3 2 2	3 2 2	3 4 -	3 1 3	
PC 300 IE/Tier + Cortison 3 x 5,0 mg/kg		3 4 -	5 2 -	6 - 1	2 3 2	1 6 -	
PC 300 IE/Tier + Cortison 3 x 10,0 mg/kg		6 1 -	4 1 2	2 1 4	3 1 3	1 2 4	
6. PC 300 IE/Tier pro die		4 2 1	4 - 3	1 - 6	1 1 5	1 - 6	
Streptomycin 15 mg/kg/die		7 - -	7 - -	6 - 1	7 - -	7 - -	
Chloromycetin 15 mg/kg/die		4 2 1	6 1 -	6 - 1	4 1 2	4 - 3	
Terramycin 10 mg/kg/die		2 1 4	2 1 4	- 1 6	1 1 5	3 1 3	
PC 300 IE/Tier + Streptom. 15 mg/kg		2 3 1	- 3 4	1 1 5	- 1 6	1 - 6	
PC 300 IE/Tier + Chloromyc. 15 mg/kg		1 2 4	1 2 4	- 1 6	1 - 6	1 - 6	
PC 300 IE/Tier + Terramyc. 10 mg/kg		- - 7	- - 7	- - 7	- - 7	- - 7	

(B. pyocyaneum)

Diskussion

Bei Durchsicht unserer Ergebnisse zeigt sich, daß die meisten Wirkungskombinationen hinsichtlich der Beeinflussung der Persistenzrate dem Penicillin gleichwertig waren. In Versuch 2 ergab sich sogar ein verminderter Effekt bei Verwendung von Pc (300 IE/Tier) + gramnegative Vaccine bzw. Zymosan (15 mg/kg.). Einzig die gleichzeitige Verwendung von Staph. aureus-Vaccine führte zu einer Verringerung der Persistenzquote.

Im folgenden sollen mögliche Ursachen für das Versagen unserer Kombinationen diskutiert werden. Es kommen in Frage:

- 1) eine ungenügende Dosierung der Antibiotika,
- 2) eine unterschiedliche Virulenz der Erreger, die ungleiche Versuchsbedingungen hervorruft,
- 3) eine partielle oder totale Unwirksamkeit
 - a) der gesteigerten körpereigenen Abwehr
 - b) des Cortisons
 - c) der Antibiotika-Kombinationen.

ad 1) Die verwendeten Antibiotika-Dosen entsprachen folgenden Dosen pro Mensch (70 kg) pro Tag:

Penicillin	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ IE
Streptomycin	1 g
Chloromycetin	1 g
Terramycin	0,75 g

jeweils gegeben über 7 Tage. — Es handelt sich demnach, wie auch von früheren Veröffentlichungen her bekannt (147), um ausgesprochen kurative Dosen, die höchstens „persisters“, aber nicht „survivors“ hinterlassen.

ad 2) Eine unterschiedliche Virulenz des verwendeten Streptokokkenstammes zeigte sich bei den einzelnen Versuchen, obwohl wir ihn durch Tierpassage auf möglichst gleiche Virulenz für alle Experimente einzustellen versucht hatten. Diese Differenzen manifestierten sich in unterschiedlichen Therapieeffekten: 200 IE Pc/Tier/Tag hatten keineswegs eine Wirkungsstärke die zwischen 150 und 300 IE lag; und 300 IE/Tier/Tag hatten in den Versuchen II, IV, V und VI jeweils verschiedene Wirkungen auf die Absterberate. Jedoch war es durch unsere Anordnung der Einzelversuche, die jeweils eine Pc-Kontrollreihe einschloß, möglich, einen Vergleich der Überlebens- und Persistenzraten anzustellen. In allen Fällen erwies sich die Virulenz als ausreichend, um bei den gewählten Keimverdünnungen eine adäquate Mortalitätsziffer zu erzeugen. Daß derartige Virulenzunterschiede durch mannigfaltige äußere Faktoren bedingt sein können (Alter der Kultur etc.) wurde früher von Kliewe und v. Wasielewski (67) näher erläutert.

ad 3 a) Es ist festzustellen, daß in den meisten unserer Versuche tatsächlich eine Aktivierung der unspezifischen Resistenz erfolgt war, wie sich aus den verringerten Absterbegeschwindigkeiten ergab. Vom Theoretischen her ist dazu zunächst folgendes zu sagen:

Seit den Versuchen von *Otsuki* (98) sowie *Dubos* und *Schaedler* (27) ist die Wirksamkeit heterologer, gramnegativer Vaccinen auf grampositive Infektionen bekannt. Pyrexal und Zymosan wurden zwar häufig gegenüber gramnegative [*Landy* (70), *Ross* (113), *Boehme* und *Dubos* (14)], jedoch nur selten gegenüber grampositiven Infektionen [*Kiser* und Mitarb. (65), *Wasz-Höckert* und Mitarb. (148)] getestet. Nach ihrer Verabfolgung ergab sich, gleichgültig ob gramnegative oder grampositive Keime als Infektionserreger verwendet wurden, eine Resistenzerhöhung, deren Dauer und Grad von Zeitpunkt und Art der Applikation sowie von der Dosierung abhängig waren. Wichtig war dabei, daß die Substanz mehr als 10 h vor der Infektion gegeben wurde, da wirksame Dosen meist eine anfängliche Depression der Resistenz zur Folge haben. Die Erhöhung des Properdintiters ging bei gramnegativen Infektionen nicht immer dem Grad der Resistenzsteigerung quantitativ parallel [*Landy* und *Pillemer* (71)]. —

Bei der Dosierung der unspezifischen Therapeutika haben wir uns an die Angaben anderer Autoren [*Dubos* und *Schaedler* (27), *Ross* (113)] gehalten. Zu hohe Dosen sind oft weniger wirksam als kleine [*Ross* (113)].

Ohne antibiotische Behandlung ergab sich in unseren Versuchen ein ausgeprägter Effekt auf die Absterbe^{geschwindigkeit} gegenüber der Kontrolle bei den mit Vaccine und ein sehr geringer bei den mit Zymosan behandelten Tieren. Möglicherweise war die Zymosandosis von 15 mg/kg zu hoch; *Pillemer* und *Ross* (104) haben jedoch mit einer solchen Dosis eine Properdintiterhöhung von 100 % über mehr als 16 Tage erhalten.

Bei Kombinationen dieser Substanzen mit Penicillin war ihr Effekt auf die Absterbe^{geschwindigkeit} zweifellos stärker als der des Pc allein, und zwar in der Reihenfolge: grampositive Vaccine > gramnegative Vaccine > Zymosan + Pc. Pyrexal nahm eine Mittelstellung je nach Dosierung ein. Ein eindeutig ausgeprägter Effekt auf die Absterbequote, d. h. eine echte Verstärkung der kurativen Wirkung, ergab sich nur nach Verabfolgung von Pc + grampositiver Vaccine. Die Ursache für diese Wirkungsdifferenzen sind uns nicht bekannt. Bisherige Versuche mit der Kombination PC + unspezif. Therapeutikum (Omnadin, Echinacin) bei der experimentellen Streptokokken-Infektion zeigten keinen Effekt auf die Überlebensrate gegenüber Pc allein [*Geks* (47), *Meyer-Rohn* (94), *Lützenkirchen* und Mitarb. (75)].

In unseren Versuchen stieg jedoch in dem Maße, in dem die Absterbe^{geschwindigkeit} verringert wurde, die Persistenzrate an; eine Ausnahme hiervon machten nur die Kollektive, die mit Pc + grampositiven Vaccine behandelt worden waren.

Man sieht also, daß eine resistenzsteigernde Wirkung der Kombinationen eintritt, wenn sie sich auch nur in der Absterbe^{geschwindigkeit} und nicht in der kurativen Rate ausdrückt. Es läßt sich also fragen, ob die genannte Wirkung nicht nur kurzdauernd war und sich bei Therapieende nicht mehr auswirken konnte.

Die Versuche von *Landy* (70), der nach Vorbehandlung mit 10 y Lipopolysaccharid (LPS) nach Ablauf einer ca. 6 h negativen Vorphase eine nur ca. 48—70 h andauernde resistenzsteigernde Wirkung in vivo erhielt, scheinen diese Ansicht zu stützen. Eine erhöhte Serumbakterizidie gegen *S. abortus equi* bleibt allerdings länger bestehen [*Fischer* (42)]. *Landy* (70) benutzte jedoch als Testkeime Properdin-sensible gramnegative Bakterien. *Dubos* und Mitarb. (28) konnten nach einmaliger Gabe von 5—50 y LPS bei der i. v.-Staphylokokken-Infektion der Maus eine wochen- bis monatelang anhaltende Resistenzsteigerung beobachten. Einmalige Injektionen von Vaccinen oder Zymosan wurden bisher nur bezüglich ihrer Wirkung auf den Properdinspiegel, nicht jedoch auf die Dauer ihrer resistenzsteigernden Wirkung untersucht. Der Properdintiter wurde ja nach Dosis und Applikationsart bis zu 3 Wochen post inject. erhöht gefunden [*Landy* und *Pillemer* (71), *Pillemer* und *Ross* (104), *Ross* (113)]. Daß diese Substanzen jedoch bei Vorbehandlung eine Schutzfunktion auch gegenüber grampositiven Keimen besitzen, wurde von *Wasz-Höckert* und Mitarb. (148) für Staphylokokken, von *Kiser* und Mitarb. (148) für Streptokokken und von *Neipp* und Mitarb. (96) für Pneumokokken-Infektionen nachgewiesen.

Eagle und Mitarb. (38) hatten nach homologer Immunisierung bei der Pc-behandelten A-Streptokokken-Infektion der Maus eine eindeutige Verringerung der Absterbequote finden können: wenn der Gewebs-Pc-Spiegel ineffektiv geworden war, starben weit mehr nicht immunisierte als immunisierte Tiere, d. h. es waren offenbar überlebende Keime („survivors!“) beim nicht immunisierten Kollektiv in stärkerem Maße „ausgereift“. Immerhin starben auch im immunisierten Kollektiv einzelne Tiere nach Absetzen der Pc-Therapie. *Speck* und *Jawetz* (132) konnten im Experiment eine chronische intramuskuläre Streptokokken-Infektion durch subkurative Pc-Gaben hervorrufen und beobachteten bei diesen Tieren eine Resistenzerhöhung gegenüber einer exogenen Reinfektion. Aber auch hier starb eine beträchtliche Anzahl der immunisierten Tiere.

In diesem Zusammenhang interessiert der von *Cohn* und *Morse* (19) an Kaninchen erhobene Befund, daß homologe Immunseren gegen *Staph. aureus* die Phagocytoserate signifikant erhöhten (Opsonineffekt). Die Phagocytose war von der intrazellulären Abtötung der Bakterien gefolgt; wobei die Keimzahl um mehr als 99% (!) reduziert wurde. Im Gegensatz hierzu erwies sich die Phagocytose-Aktivität eines normalen Kaninchenserums gegen den genannten Keim als außerordentlich gering. Auch aus den Versuchen von *Suter* (135) und *Pomales-Lebron* und Mitarb. (106) geht hervor, daß Phagocyten immunisierter Tiere eine in ihnen stattfindende Bakterienvermehrung zwar hemmen können, daß jedoch eine vollständige Abtötung nicht konstant bewirkt wird, seltener noch bei Tuberkelbakterien als bei Brucellen. Der Effekt auf Brucellen war abhängig von der Virulenz, der Empfindlichkeit der Phagocyten und der Resistenz des Wirtsorganismus (106).

Wir können aus unseren Versuchen nicht eindeutig entscheiden, ob tatsächlich ein *prinzipielles* Versagen der körpereigenen Abwehrmechanismen gegenüber dem Persistenz-Phänomen vorliegt oder ob diese Mechanismen nur ungenügend stimuliert worden waren; denn es ist schwierig zu entscheiden, wie lange die Phase der gesteigerten Resistenz angehalten hatte. Eine größere Zahl überlebender Tiere zum Zeitpunkt des Absetzens der spezifischen Therapie kann sowohl von Tieren herrühren, bei denen bereits zu Beginn der Infektion vorhandene „persisters“ *beseitigt* wurden als auch von solchen, bei denen die Gesamtkeimzahl bei Versuchsende infolge der gesteigerten unspezifischen Abwehr *geringer* als die der Pc-behandelten Kontrollen war und die infolgedessen nicht ad exitum kamen, sondern mit Hilfe des Pc und der unspezifischen Abwehrmechanismen die Keime zu vernichten imstande waren.

Ferner muß die Frage gestellt werden, inwieweit eine Steigerung der *allgemeinen* Resistenzlage auch der Anregung *lokaler* Abwehrvorgänge (gegenüber den „persisters“) gleichkommt. — Diese Unsicherheitsfaktoren lassen eine Entscheidung über die Bedeutung der Anregung unspezifischer Abwehrmechanismen bei der Bekämpfung der Persistenz schwierig werden.

ad 3 b) Von dem Effekt des Cortisons auf Absterbebeschwindigkeit und -rate war schon die Rede. Wir konnten in unseren Versuchen die Angaben von *Ilavsky* und *Foley* (58) bestätigen, daß mit Pc + Cortison behandelte Tiere in der Dosierung von $3 \times 2,5$ und 3×5 mg/kg Cortison sich bezüglich der Überlebensdauer nicht von den nur mit Pc behandelten unterscheiden, und daß mit höherer Cortison-Dosis sogar eher eine *Wirkungsverstärkung* (!) des Pc zustandekommt. Obwohl wir uns bei der Dosierung des Cortisons an die Versuchsangaben von *Denny* und *Thomas* (24) und *Thomas* (137) hielten, trat der erwartete „Ausreifungseffekt“ auf die Bakterien, der sich unter dem Schutz des Pc in einer erniedrigten Persistenzquote auswirken sollte, in keinem Falle ein. Die erhöhte Persistenzzahl bei einigen Kollektiven könnte vielmehr darauf hinweisen, daß erst nach Aufhören des Pc-Effektes die „persisters“ zum Zuge kamen und nunmehr auf eine durch Cortison verminderte Körperabwehr stießen. Wodurch die Abwehrleistungen verringert werden, kann hier nicht im einzelnen diskutiert werden. Eine neuere Arbeit von *v. Wasielewski* und *Knick* (146) führt auf: Hemmung der RES-Aktivität, der Gewebs- und Capillarpermeabilität der Antikörperproduktion u. a. Es sei hier auf diese Arbeit sowie auf die von *Jawetz* (62) und *Foley* und Mitarb. (44,45) verwiesen. Möglicherweise spielte bei unseren Versuchen die verminderte RES-Aktivität eine Rolle, die einen „Ausreifungseffekt“ nicht zum Zuge kommen ließ.

ad 3 c) Auch die Antibiotika-Kombinationen enttäuschten unsere Erwartungen bezüglich der Persistenzbeeinflussung. Kritisches zu der Bewertung unserer Ergebnisse hatten wir bereits vorher geäußert. Aber selbst ohne Berücksichtigung der Tatsache einer aufgetretenen Infektion war zu ersehen, daß sowohl die Absterbe- als auch die Persistenzrate durch die Kombination nicht wesentlich gegenüber der Pc-Kontrollserie beeinflußt wurden.

Das Streptomycin allein in vivo unwirksam gegen pyogene Streptokokken-Infektionen ist, war durch die Untersuchungen von *Jawetz* (59) sowie von *v. Wasielewski* u. Mitarb. (147) bekannt. In unseren Versuchen erwies sich Chloromycetin als weniger und Terramycin als etwa gleich wirksam wie Penicillin. Die Kombination Pc + Streptomycin, Pc + Chloromycetin und Pc + Terramycin waren in keinem Fall signifikant wirksamer als Pc allein; meist ergab sich keine Wirkungsdifferenz gegenüber Penicillin.

Jawetz und Mitarb. (60, 61, 131) hatten lediglich einen synergistischen Einfluss der Kombination Pc + Streptomycin auf die kurative Rate der Streptokokkeninfektion der weißen Maus gefunden; Chloromycetin oder Terramycin hatten sich in Kombination mit Pc entweder als antagonistisch oder als neutral gegenüber Pc allein erwiesen — je nach Dosierung und Zeitpunkt des Wirkungseintritts des einzelnen Antibiotikums. Nach *Dowling* (26) ist ein echter antibiotischer Synergismus ohnehin selten.

Das Thema der Antibiotika-Kombinationen wurde kürzlich (1960) von *Dowling* (26) und von *McCune* (86) einer näheren experimentellen und theoretischen Prüfung unterzogen. Dabei ergab sich, teilweise in Bestätigung der *Jawetz*'schen Versuche, daß die Wirkung einer Kombination auf ein bestimmtes Bakterium abhängig ist (Empfindlichkeit vorausgesetzt):

- 1) von der Dosierung,
- 2) vom Zeitpunkt der Applikation (zu Beginn der Infektion oder nach einer Warteperiode),
- 3) vom Zeitpunkt des Wirkungseintritts und
- 4) vom Wirkungsmechanismus jedes der verwendeten Antibiotika.

Im einzelnen sei hier auf die Originalarbeiten verwiesen; von Punkt 2 und 4 war in unseren Betrachtungen anfangs schon die Rede. *McCune* betont, daß eine „Ausrottung“ der Bakterien auch durch kombinierte Chemotherapie meist nicht erreicht wird, selbst in den Fällen, in denen die Keime in die „Latenz“ zurückgedrängt wurden (Streptovaricin + INH (84), Pyrazinamid + INH (82) bei der experimentellen Tuberkulose) ergaben sehr später wieder Rückfälle.

So konnte auch *Walker* (144) die Rezidivquote von Streptokokkenanginen durch die Kombination Penicillin/Chloromycetin gegenüber Pc allein nicht senken; bei Scharlachfällen schien die Anwendung der Kombination sogar häufiger als bei Pc-Applikation eine „dormant infection“ zur Folge zu haben [*Ström* (134)].

Wenn wir auch einen synergistischen Effekt der Kombination Penicillin + Streptomycin nicht beobachten konnten (Dosierungsfrage?), so konnten wir doch die oben genannten Ergebnisse mit Penicillin + Chloromycetin und Penicillin + Terramycin bestätigen. Man muß also annehmen, daß sich der durch Chloromycetin und Terramycin hervorgerufene Effekt als „Bakteriostase“ entweder vor oder gleichzeitig mit dem Wirkungseintritt des Penicillins äußerte, wodurch dann Penicillin selbst nicht mehr entsprechend

wirksam werden konnte, oder daß er nach Beginn der Penicillin-bedingten Bakterizidie sich nur noch im Sinne eines zusätzlichen, jedoch nicht unumgänglich notwendigen bakteriostatischen Mechanismus zeigte. Man könnte hier tatsächlich von einem „bakteriostatischen Sperriegel“ [Klein (66)], der sich vor die Bakterizidie legt, sprechen. —

Insgesamt müssen wir sagen, daß trotz Versuchs einer Analyse der Faktoren, die die Unwirksamkeit der kombinierten Arzneitherapie bedingen, eine Erklärung für ihr Versagen nicht gegeben werden konnten. Zugegebenermaßen wird der Versuch einer Beeinflussung der Persistenz dadurch sehr erschwert, daß die Milieufaktoren, die zwecks Ausreifung der „persisters“ geändert werden müssen, im einzelnen (noch) nicht genau bekannt sind. Insofern blieben unsere Experimente im Bereich des „Tastens“ in einem bisher noch nicht weit erforschten Gebiet.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, das Phänomen der Keimpersistenz (d. i. das Überleben Antibiotika-sensibler Bakterien trotz antibiotischer Behandlung) auf tierexperimentellem Wege näher aufzuklären.

Einmal haben wir es unternommen, durch kombinierte Therapiemaßnahmen bei der Penicillin-behandelten i. p. Streptokokken-Infektion (Stamm B-Aronson) der Maus das Entstehen persistierender Keime zu verhindern. Hierzu wurde das Antibiotikum nach Vorbehandlung mit unspezifisch resistenzsteigernden Substanzen (Vaccine aus Salm. abortus equi und Staphylococcus aureus, Pyrexal, Zymosan) gleichzeitig mit Cortison und mit anderen Antibiotika (Streptomycin, Chloromycetin und Terramycin) kombiniert verabfolgt, wobei verschiedene Dosierungsschemata angewandt wurden. Jedoch war keine dieser Kombinationen imstande, das Persistenzphänomen zu unterdrücken. Ein eindeutig „persistenzmindernder“ Effekt ergab sich nur bei Verwendung von grampositiver Vaccine (aus Staph. aureus) + Penicillin. In allen anderen Fällen erwies sich die alleinige Gabe von Pc den Kombinationen gleichwertig oder sogar überlegen; z. T. war ein — zahlenmäßig nicht bedeutender — Anstieg der Persistenzquote in den Tierkollektiven, deren Überlebensdauer unter der Kombinationstherapie gegenüber der Pc-Behandlung verlängert wurde, zu bemerken.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde an Hand von bakteriologischen Organuntersuchungen der Weg einer mit Chloramphenicol behandelten intraperitonealen bzw. intravenösen Salm. typhi murium (Breslau)-Infektion der Maus verfolgt. Auf Grund der Ergebnisse konnten wir — in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren — darauf schließen, daß diese Keime vor allem in Organen, die eine Zugehörigkeit zum retikuloendothelialen System aufweisen (Milz, Leber) zu persistieren vermögen. Es muß aber angenommen werden, daß generell Persistenzen überall dort auftreten, wo das Milieu ihr Auftreten fördert, d. h. bei anderen Infektionen auch in anderen Organen. Im einzelnen sind die Milieufaktoren, die zur Persistenz führen, noch ungeklärt.

Literaturverzeichnis

- Baker, H. J.: „Effects of Penicillin and Streptomycin on staphylococci in cultures of mononuclear phagocytes“. Ann. N. Y. Acad. Sci. 58, S. 1232 (1954), zit Kapral and Shayegani (64).
- Bakken, K. and Vogelsang, Th. M.: „The pathogenesis of *Salmonella typhi* murium infection in mice“. Acta path. microbiol. scand. 27, S. 41 (1950).
- Barclay, W. R., Ebert, R. H., LeRoy G. V., Manthei, R. W. and Roth, L. J.: „Distribution and excretion of radioactive isoniazid in tuberculosis patients“. J. amer. med. Ass. 151, S. 1384 (1953), zit. McDermott (89).
- Bartmann, K., Viknow, J., Schwarz, Ch.: „Tierexperimentelle Untersuchungen zu einer intermittierenden Chemotherapie und -prophylaxe der Tuberkulose III: Prophylaktische Versuche mit INH an massiv infizierten Meerschweinchen“. Beitr. Klin. Tuberk. 116, S. 471 (1957).
- Bartmann, K.: INH-Prophylaxis in exposed or minimally infected animals“. Bull. Un. int. Tuberc. 24, S. 214 (1959).
- Batten, J. C. and McCune, R. M.: „The influence of corticotrophin and cortisone with antituberculous drugs on populations of *M. tbc.* in tissues of mice“. Brit. J. exp. Path. 38, S. 424 (1957).
- Bauer, T. J., Usilton, L. J. and Price, E. V.: „Rapid treatment of early syphilis“ J. Vener. Dis. Inform. 31, S. 65 (1950), zit. Eagle (36).
- Bennett, I. L. and Beeson, P. B.: „Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects“. Yale J. Biol. Med. 26, S. 241 (1953).
- Berry, L. J.: „Effect of malonate on growth rate of *Salmonella typhi* murium in mice“. Ann. N. Y. Acad. Sci. 62, S. 327 (1955).
- Berntsen, C.: „Influence of age and size of bacterial population on the rapid bactericidal action of penicillin“. J. clin. Invest. 33, S. 917 (1954).
- Berntsen, C.: „Unpublished experiments“, zit. McDermott (89).
- Bigger, J. W.: „The bactericidal action of penicillin on staphylococcus pyogenes“. Irish J. med. Sci. 553 und 585 (1944) zit. Eagle (36).
- Bigger, J. W.: „The treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization“. Lancet S. 497 (1944) zit. McDermott (89).
- Blattberg, B.: „Increase in bactericidal activity as a result of injection of zymosan“. Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. 92, S. 745 (1956).
- Boehme, D. and Dubos, J.: „The effect of bacterial constituents on the resistance of mice to heterologous infection and on the activity of their reticulo-endothelial System“. J. exp. Med. 107, S. 523 (1958).
- Canetti, G.: „The tubercle bacillus in the pulmonary lesion of man; histobacteriology and its bearing on the therapy of pulmonary tuberculosis“. Springer Publishing Co. New York 1955, 1-226, zit. McDermott (89).
- Catanzaro, F. J., Stetson, C. A., Morris A. J., Chamowitz C. R., Rammelkamp, C. H., Stolzer, B. L. and Perrez, W. D.:

- „The role of the streptococcus in the pathogenesis of rheumatic fever“. Amer. J. Med. 17, S. 749 (1954)
- Chain, E. and Duthie, S.: „Bactericidal and bacteriostatic action of penicillin on the staphylococcus“ Lancet 652 (1945), zit. Eagle (36)
- Coggeshall, L. T., Rice, F. A. and Yount, E. H.: „The cure of recurrent vivax malaria and the status of immunity thereafter“. Trans. Ass. amer. Phys. 61, S. 81 (1948), zit. McDermott (89)
- Cohn, Z. A. and Morse, S. I.: „Interactions between rabbit polymorphonuclear leucocytes and staphylococci“. J. exp. Med. 110, S. 419 (1959)
- Daikos, G. K. und Weinstein, L.: „Mikrobielle Persistenz studiert in vivo durch Anwendung künstlicher Fibringerinsel. I. Wachstum v. Bakterien in den Fibringerinseln, Strept. viridans-Persistenz nach Penicillin-Verabreichung“. Klin. Wschr. 39, S. 52 (1960)
- Darnell, J. E., Pesch, B. P. and Glaser, R. J.: „Effect of Penicillin on Group A streptococci in vivo in the absence of leucocytes“. J. clin. Invest. 34, S. 1237 (1955)
- Davis, B. D.: „Principles of chemotherapy in Bacterial and mycotic infections of man“.
- Dawson, M. H. and Hunter, T. H.: „The treatment of subacute bacterial endocarditis with penicillin“. I. J. Amer. Med. Ass. 127, S. 129 (1945), II. Arch. intern. Med. 24, S. 170 (1946), zit. Eagle (36)
- Denny, F. W. and Thomas, L.: „Persistence of group A streptococci in tissues of rabbits after infection“. Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. 88, S. 260 (1955)
- Jurisc, M. und Drndarski, K.: „Über das Problem der sog. viable et non-viable Tuberkelbazillen bei der exp. Tbc der Meerschweinchen, die mit großen Dosen von Streptomycin, INH und deren Kombinationen behandelt wurden“. Schweiz. Z. Path. Bakt. 21, S. 115 (1958)
- Dowling, H. F.: „The conditions under which the use of combinations of antibiotics is undesirable“. Antibiot. Chemother., Basel 8, S. 114 (1960)
- Dubos, R. and Schaedler, R. W.: „Reversible changes in the susceptibility of mice to bacterial infections: I. Changes brought about by injection of pertussis vaccine or of bacterial endotoxins“ J. exp. Med. 104, S. 53 (1956)
- Dubos, R. J., Schaedler, R. W. and Böhme, D.: „Effects of bacterial endotoxins on susceptibility to infection with grampositive and acid-fast bacteria“ Fed. Proc. 16, S. 856 (1957)
- Dubos, R. J.: „Bacterial and mycotic infections of man“ J. B. Lippincott Comp., Philadelphia 1958
- Eagle H. and Musselmann, A. D.: „The rate of bactericidal action of penicillin in vitro as a function of its concentration, and its paradoxically reduced activity at high concentrations against certain organisms“. J. exp. Med. 88, S. 99 (1948)
- Eagle, H. and Musselmann, A.: „The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin“. J. Bact. 58, S. 475 (1949)

- Eagle, H.: „The effect of the size of the inoculum and the age of the infection on the curative dose of Penicillin in experimental infections with streptococci, pneumococci, and treponema pallidum“. J. exp. Med. 90, S. 595 (1945)
- Eagle, H.: „The recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin“. J. clin. Invest. 28, S. 832 (1949)
- Eagle, H., Fleischmann, R. and Musselmann, A. D.: „Effect of schedule on the therapeutic efficacy of penicillin: Importance of the aggregate time Pc. remains at effectively bactericidal levels“. Amer. J. Med. 9, S. 280 (1950)
- Eagle, H., Fleischmann, R. and Musselmann, A. D.: The bactericidal action of penicillin in vivo: The participation of the host, and the slow recovery of the surviving organisms“. Ann. intern Med. 33, S. 544 (1950)
- Eagle, H.: „Experimental approach to the problem of treatment failure with penicillin: I. Group A streptococcal infection in mice“. Amer. J. Med. 13, S. 389 (1952)
- Eagle, H., Fleischmann, R. and Levy, M.: „Continuous vs. discontinuous therapy with Penicillin — The effect of the interval: between injections on therapeutic efficacy“. New. Engl. J. Med. 248, S. 481 (1953)
- Eagle, H., Fleischmann, R. and Levy, M.: „Effect of prior immunization on bactericidal action of Penicillin in vivo“. Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. 82, S. 201 (1953)
- Eagle, H.: The binding of Penicillin in relation to its cytotoxic action. III. The binding of Penicillin by mammalian cells in tissue culture (HeLa and L strains)“. J. exp. Med. 100, S. 117 (1954)
- Eichenberger, E., Schmidhauser-Kopp, M., Hurni, H., Fricssay, M. und Westphal, O.: „Biologische Wirkungen eines hochgereinigten Pyrogens (Lipopolysaccharid) aus Salmonella abortus equi Schweiz.med. Wschr. 85, S. 1190 (1955)
- Fari, A.: „Contribution à l'étude de l'action des antibiotiques sur l'immunité“. Ann. Inst. Pasteur, Suppl. 5, S. 1 (1959)
- Fischer, J.: „Zur Beeinflussung der Serumbakterizidie. Ein Beitrag zur Frage der unspezifischen Resistenz“. Schweiz. Z. Path. Bakt. 22, S. 827 (1959)
- Foley, E. J.: „A comparison of the effectiveness of certain antibiotics on streptococcus infection of mice“. J. Bact. 68, S. 754 (1954)
- Foley, E. J.: „Therapeutic effect of chlortetracycline and oxytetracycline in immunized mice treated with cortisone“, Antibiot. Chemother., N. Y. 5, S. 1 (1955)
- Foley, E. J., Morgan, A. W. and Greco, G.: „Effect of prednisone and prednisolone on streptococcus infections in mice treated with chlor-tetracycline“ Antibiot. Chemother., N. Y. 7, S. 65 (1957)

- DeGaetani, G. F. e Ferina, F.: „Associazione adrenalina-penicillina nella setticemia stafilococcica sperimentale“. *Minerva Med.* 1, S. 1049 1952, zit. *Mediz. Periskop Ingelheim* 2, S. 109 (1952)
- Geks, J.: „Tierexperimentelle Versuche über die Wirkungssteigerung des Penicillins durch unspezifische Reizmittel“ *Arzneimittelforsch.* 3, S. 445 (1953)
- Gewalt, G. und Fischer, E.: „Ein neues Gerät zur Sterilisation mit gespanntem Aethylenoxyd“. *Münch. med. Wschr.* 101, S. 563 (1959)
- Gowans, J. L.: „The effect of some antibiotics on coccal infection in mice“. *Brit. J. exp. Path.* 34, S. 195 (1953)
- Hallmann, L.: „Bakteriologie und Serologie“ G. Thieme, Stuttgart 1955
- Hobby, G. L., Meyer, K. and Chaffee, E.: Observation on mechanism of action of penicillin“. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y. 50, S. 281 (1942) zit. McDermott (89)
- Hobby, G. L. and Dawson, M. H.: „Bacteriostatic action of Penicillin on hemolytic streptococcus in vitro“. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y. 56, S. 78 (1944), zit. Eagle.
- Hobby, G. L. and Dawson, M. H.: „Effect of rate of growth of bacteria on action of Penicillin“. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 56, S. 181 (1944) zit. Eagle (36)
- Hobby, G. L., Auerbach, O., Lenert, T. F., Small, M. J. and Comer, J. V.: „The late emergence of M. tbc. in liquid cultures of pulmonary lesions resected from humans“. *Amer. Rev. Tuberc.* 70, S. 191 (1954)
- Hobby, G. L.: „The current status of the development of antimicrobial agents“. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 31, S. 181 (1955)
- Hobby, G. L. and Lenert, T. F.: „The in vitro-action of antituberculous agents against multiplying and non-multiplying microbial cells“. *Amer. Rev. Tuberc.* 76, S. 1031 (1957)
- Hobson, D.: „Chronic bacterial carriage in survivors of experimental mouse typhoid“ *J. Path. Bact.* 73, S. 399 (1957)
- Ilavsky, J. and Foley, E. J.: „Observations on antibiotic treatment of bacterial infections of cortisone treated mice“. *Proc. Soc. exp. Biol.* N. Y. 84 S. 211 (1953)
- Jawetz, E.: „Dynamics of the action of Penicillin in experimental animals“. *Arch. intern. Med.* 77, S. 1 (1946)
- Jawetz, E., Gunison, J. B., and Speck, R. S.: „Studies on antibiotic synergism and antagonism. The interference of Aureomycin, Chloramphenicol and Terramycin with the action of Streptomycin“. *Am. J. Med. Sci.* 222, S. 404 (1951)
- Jawetz, E., Gunnison, J. B., Speck, R. S. and Coleman, V. R.: „Studies on antibiotic synergism and antagonism. The interference of Chloramphenicol with the action of Penicillin“. *Arch. intern. Med.* 87, S. 349 (1951)
- Jawetz, E.: „Effect of cortisone on therapeutic efficacy of antibiotics in experimental infections“. *Arch. intern. Med.* 93, S. 850 (1954)

- Kaplan, M. E.: „Localization of streptococcal antigens in tissues“ J. exp. Med. 107, S. 341 (1958)
- Kapral, F. A. and Shayegani, M. G.: „Intracellular survival of staphylococci“. J. exp. Med. 110, S. 123 (1959)
- Kiser, J. S., Lindh, H. and de Mello, G. C.: „The effect of various substances on resistance to experimental infections“. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, S. 312 (1956)
- Klein, P.: „Über die beiden Wirkungs determinanten des Terramycin“. Klin. Wschr. 31, S. 1087 (1953)
- Kliewe H. und v. Wasielewski, E.: „Begriff und Wesen der Pathogenität, Infektiosität und Virulenz von Bakterien“. Ärztl. Forsch. 11, S. 165 (1957)
- Koch-Weser, D.: „The influence of the metabolic state of tubercle bacilli upon the action of isoniazid in vitro“. J. clin. Invest. 35, S. 718 (1956)
- Kosunen, T.: „Acute experimental infections in mice quantitative microbial studies“. Ann. Med. exp. Fenn. Suppl. 2, S. 1 (1959)
- Landy, M.: „Increase in resistance following administration of bacterial lipopolysaccharides“. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, S. 292 (1956)
- Landy, M. and Pillemer, L.: „Increased resistance to infection and accompanying alteration in properdin levels following administration of bacterial lipopolysaccharides“ J. exp. Med. 104, S. 383 (1956)
- Lelong, M., Alison, F., Meyer, B. et Célers-Bourillon, J.: „Essais de traitement de la tuberculose de nouveau-né dès la période antallergique“ Arch. franc. Pédiat. 11, S. 1 (1954)
- Lemaistre, C. A. and Tompsett, R.: „The emergence of pseudo-tuberculosis in rats given cortisone“. J. exp. Med. 95, S. 393 (1952), zit. McDermott (89)
- Linz, R. et Lecocq, E.: „A propos des germes survivant à l' action bactéricide de la pénicilline“. C. R. Soc. Biol. 152, S. 1839 (1958)
- Lützenkirchen, A., Gutmann, E. und Literski, G.: „Zur Reizkörper- und Penicillintherapie bei der Streptokokkensepsis“. Dtsch. Med. Wschr. 50, S. 1858 (1954)
- Lommel, H.: Diss. Hamburg 1953, zit. Klein (66)
- Mackness, G. B. and Smith, N.: „The bactericidal action of INH, Streptomycin and Terramycin on extracellular and intracellular Tb.-bacilli“. Amer. Rev. Tuberc. 67, S. 322 (1953)
- MacLeod, C. M.: „Interaction of host, microbe and chemotherapeutic agent“ Bull. N. Y. Acad. Med. 31, S. 427 (1955)
- Magoffin, R. L. and Spink, W. W.: „Protection of intracellular brucella against streptomycin alone and in combination with other antibiotics“. J. Lab. clin. Med. 37, S. 924 (1951)
- Mainland, D. and Murray, J. M.: „Tables for use in fourfold contingency tests“ Science 116, S. 591 (1952)
- McCune R. and Tompsett, R.: „Fate of M. tuberculosis in mouse tissues as determined by the microbial enumeration technique: I. The per-

- sistence of drug-susceptible tb-bacilli in the tissues despite prolonged antimicrobial therapy". J. exp. Med. 104, S. 737 (1956)
- McCune, R., Tompsett, R. and McDermott, W.: dto. „II. The conversion of tuberculosis infection to the latent state by the administration of Pyrazinamide and a comparison drug". J. exp. Med. 104, S. 763 (1956)
- McCune, R., Dineen, P. A. P. and Batten, J. C.: „The effect of antimicrobial drugs on an expericental staphylococcal infection in mice". Ann. N. Y. Acad. Sci. 65, S. 91 (1956)
- McCune, R., Deuschle, K., Jordahl, C., Des Prez, R., Mutschenheim, C. and McDermott, W.: „The influence of streptovaricin used alone and with isoniazid in an experimental tuberculous infection in animals, and some clinical observations". Amer. Rev. Tuberc. 75, S. 659 (1957), zit. McCune (86)
- McCune, R., Lee, S. H., Deuschle, K. and McDermott, W.: „Ineffectiveness of isoniazid in modifying the phenomenon of microbial persistence". Amer. Rev. Tuberc. 76, S. 1106 (1957)
- McCune, R.: „Study methods demonstrating the mechanism of multiple drug influence on a single infection". Antiobiot. Chemother., Basel 8, S. 126 (1960)
- McCune, R.: „Delivery of antimicrobial drugs across inflammatory membrane in rabbits". J. clin. Invest. 39, S. 856 (1960)
- McDermott, W.: „Chemotherapy of microbial diseases in Bacterial and mycotic infections of man" J. B. Lipincott Comp. Philadelphia 1958
- McDermott, W.: „Microbial persistence". Yale J. Biol. Med. 30, S. 257 (1958)
- McDermott, W.: „Drug-Microbe-Host-Mechanisms involved in a consideration of chemoprophylaxis". Bull. Un. int. Tuberc. 24, S. 243 (1959)
- McDermott, W.: „Inapparent infection relation of latent and dormant infections to microbial persistence". Publ. Hlth. Rep., Wash. 74, S. 485 (1959)
- McDermott, W., and Tompsett, R.: „Activation of pyrazinamide and nicotinamide in aerobe environments in vitro". Amer. Rev. Tuberc. 70, S. 748 (1954)
- Meyer, K. F. and Eddie, B.: „Human carrier of the psittacosis virus" J. infect. Dis. 88, S. 109 (1951), zit. Smadel (123)
- Meyer-Rohn, J.: „Experimentelle Untersuchungen mit der Kombination Omnadin/Penicillin". Arzneimittelforsch. 4, S. 335 (1954)
- Mitchison, D. and Selkon, J. B.: „The bactericidal activities of antituberculosis drugs". Amer. Rev. Tuberc. 74, S. 109 (1956), zit. McDermott (89)
- Neipp, L., Kunz, W. und Meier, R.: „Selektive Erhöhung der „natürlichen" Resistenz gegenüber bakterieller Infektion durch Polysaccharide und andere Pharmaka". Schweiz. med Wschr. 89, S. 532 (1959)

- O r s k o v, J., J e n s e n, K. A. und K o b a y a s h i, K.: „Studien über die Breslauinfektion der Mäuse speziell mit Rücksicht auf die Bedeutung des Retikuloendothelialgewebes“. Z. Immun. Forsch. 55, S. 34 (1928)
- O t s u k i, S.: „Über die Schwankungen der Resistenz gegen Streptokokkeninfektionen nach Immunisierung mit Heterobakterien“. Z. Immun. Forsch. 74, S. 249 (1931)
- P a r k e r, R. F. and M a r s h, H. C.: „The action of Penicillin on staphylococcus“. J. Bact. 51, S. 181 (1946)
- P a r k e r, R. F. and L u s e, S.: „The action of Penicillin on staphylococcus: Further observations on the effect of a short exposure“. J. Bact. 56, S. 75 (1948)
- P e i z e r, L. R., C h a v e s, A. D. and W i d e l o c k, D.: „The effects of early isoniazid treatment in experimental guinea pig tuberculosis“. Amer. Rev. Tuberc. 76, S. 732 (1957)
- P i e r c e, C. H., D u b o s, R. J. and S c h a e f e r, W. B.: „Multiplication and distribution of tubercle bacilli in the organs of mice“. J. exp. Med. 97, S. 189 (1953)
- P i l l e m e r, L., B l u m, L., L e p o w, I. H., R o s s, O. A., T o d d, E. W. and W a r d l a w, A. C.: „The properdin system and immunity I.: Demonstration and isolation of a new serum protein, properdin and its role in immune phenomena“. Science 120, S. 279 (1954)
- P i l l e m e r, L. and R o s s, O. A.: „Alteration in serum properdin levels following injection of zymosan“. Science 121, S. 732 (1955)
- P l u m m e r, N. and others: „Penicillin therapy in hemolytic streptococcal pharyngitis and tonsillitis“. J. Amer. med. Ass. 127, S. 369 (1945), zit. Fari (41)
- P o m a l e s - L é b r o n, A. and S t i n e b r i n g W. R.: „Intracellular multiplication of Brucella abortus in normal and immune mononuclear phagocytes“. Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 94, S. 78 (1957)
- R a m m e l k a m p, C. H. and K i r b y, W. M. M.: „Factors determining the dosage of penicillin in the treatment of infections“. Bull. N. Y. Acad. Med. 21, S. 656 (1945), zit. McDermott (89)
- R a n s m e i e r, J. C.: „The effect of aureomycin against B. tularensis“. J. clin. Invest. 28, S. 977 (1949)
- R a s k a, K. und R o t t a, J.: „Die Persistenz von Streptokokken der Gruppe A nach intranasaler Infektion“. Schweiz. Z. Path. Bakt. 19, S. 356 (1956)
- R e p l o h, H. und C h e m n i t z, H.: „Versuche zur Wirkungssteigerung der Penicillinbehandlung durch Omnadin“. Medizinische 536 (1952)
- R o g e r s, D. E.: „The blood stream clearance of staphylococci in rabbits“. Ann. N. Y. Acad. Sci. 65, S. 73 (1956)
- R o g e r s, D. E. and T o m p s e t t, R.: „The survival of staphylococci within human leucocytes“. J. exp. Med. 95, S. 209 (1952)
- R o s s, O. A.: „Experimental studies of the in vivo relationships of the properdin system to resistance to infection“. Amer. J. Path. 34, S. 471 (1958)

- Schaeffler, R. W. and Dubos, R.: „Reversible changes in the susceptibility of mice to bacterial infections: II. Changes brought about by nutritional disturbances“. *J. exp. Med.* 104, S. 67 (1956)
- Schaeffler, W. B.: „The effect of isoniazid on growing and resting tubercle bacilli“. *Amer. Rev. Tuberc.* 69, S. 125 (1954)
- Schewer, E.: „Effects of modified host metabolism and altered defense mechanisms on survival time and pathogen counts in tissues and total body of mice infected intravenously with *Salmonella typhi* murium“. *J. infect. Dis.* 102, S. 275 (1958)
- Schmidt, L. H.: „Some observations on the utility of simian pulmonary tuberculosis in defining the therapeutic potentialities of isoniazid“. *Amer. Rev. Tuberc.* 74/II, S. 138 (1956)
- Schmidt, L. H.: „Observations on the utility of isoniazid in the prophylaxis of experimental tuberculosis. *Bull. Un. int. Tuberc.* 24, S. 276 (1959)
- Sellers, T. F. and LeMaistre, Ch. A.: „Experimental staphylococcal infection in mice: observations on the effects of inoculum size, strain variation, penicillin, and cortisone“. *J. Lab. clin. Med.* 55, S. 199, (1960)
- Shaffer, J. M., Kucera, C. J. and Spink, W. W.: „The protection of intracellular brucella against therapeutic agents and the bactericidal action of serum“. *J. exp. Med.* 97, S. 77 (1953)
- Simon, H. J.: „Attenuated Infection“ J. B. Lippincott, Philadelphia 1960
- Smadel, J. E., Traub, R., Ley, R. L., Philip, C. B., Woodward, I. E. and Lewthwaite, R.: „Chloromycetin in the chemoprophylaxis of scrub typhus: II. Results with volunteers exposed in hyperendemic areas of scrub typhus“. *Amer. J. Hyg.* 50, S. 75 (1949)
- Smadel, J. E., Bailey, C. A. and Diercks, F. H.: dto. „IV Relapses of scrub typhus in treated volunteers and their prevention“. *Amer. J. Hyg.* 51, S. 229 (1950), zit. Smadel (123)
- Smadel, J. E., Ley, H. L., Diercks, F. H., and Cameron, J. A.: „Persistence of *R. tsutsugamushi* in tissues of patients recovered from scrub typhus“. *Amer. J. Hyg.* 56, S. 294 (1952), zit. Smadel (123)
- Smadel, J. E.: „Influence of antibiotics on immunologic responses in scrub typhus“. *Amer. J. Med.* 17, S. 246 (1954)
- Smadel, J. E.: „Some aspects of intracellular infection“. *J. Immunol.* 84, S. 1 (1960)
- Smith J. M.: „Studies on the fate of virulent and avirulent staphylococci in mice“. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 65, S. 67 (1956)
- Smith, J. M. and Dubos, R. J.: „The behavior of virulent and avirulent staphylococci in the tissues of normal mice“. *J. exp. Med.* 103, S. 87 (1956)
- Smith, M. R. and Wood, W. B.: „An experimental analysis of the curative action of penicillin in acute bacterial infections: II. The role of phagocytic cells in the process of recovery“. *J. exp. Med.* 103, S. 499 (1956)

- Smith, J. W.: „The persistence of penicillin-sensitive nonhemolytic streptococci in the throat during treatment with penicillin“. *Stanford med. Bull.* 16, S. 233 (1958)
- Snyder, T. L.: „Relative errors of bacteriological plate counting methods“. *J. Bact.* 54, S. 641 (1947), zit. Kosunen (69)
- Speck, R. S., Jawetz, E. and Gunnison, J. B.: „Studies on antibiotic synergism and antagonism. The interference of Aureomycin or Terramycin with the action of penicillin in infections in mice“. *Arch. intern. Med.* 88, S. 168 (1951)
- Speck, R. and Jawetz, E.: „Antibiotic synergism and antagonism in a subacute experimental streptococcus infection in mice“. *Am. J. Med. Sci.* 223, S. 280 (1952)
- Speck, R. S. and Jawetz, E.: „Effect of antibiotics on development of resistance to hemolytic streptococcus infection“. *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.* 79, S. 510 (1952)
- Spicer, S. and Blitz, D.: „A study of the response of bacterial populations to the action of penicillin, a quantitative determination of its effect on the organisms“. *J. Lab. clin. Med.* 33, S. 417 (1948)
- Ström, J.: „Question of antagonism between Penicillin and chlortetracycline, illustrated by therapeutical experiments in scarlatina“. *Antibiot. Med.* 1, S. 6 (1955)
- Suter, E.: „Multiplication of tubercle bacilli within mononuclear phagocytes in tissue cultures derived from normal animals and animals vaccinated with BCG“. *J. exp. Med.* 97, S. 235 (1953)
- Tayer, J. D., Perry, H. J., Field, F. W. and Garson, W.: „Failure of Penicillin, chloramphenicol, erythromycin and novobiocin to kill phagozytized gonococci in tissue“. *Antibiot. Ann.* 513 (1957)
- Thomas, L.: „Cortisone, ACTH and infection“, *Bull. N. Y. Acad. Med.* 31, S. 485 (1955)
- Tigertt, W. D. and Benenson, A. A.: „Studies on Q-fever in man“ *Trans. Ass. Amer. Phys.* 69, S. 98 (1956), zit. McDermott (89)
- Tompsett, R., Schultz, S., McDermott, W.: „Influence of protein-binding on the interpretation of Penicillin activity in vitro“. *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.* 65, S. 163 (1947)
- Tompsett, R., Schultz, S., McDermott, W.: The relation of protein-binding to the pharmacology and antibacterial activity of penicillins X, G, dihydro F, and K.“ *J. Bact.* 53, S. 581 (1947)
- Tompsett, R.: „The survival of staphylococci within phagocytic cells“. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 30, S. 480 (1954)
- Tompsett, R.: „Protection of pathogenic staphylococci by phagocytes“ *Trans. Ass. amer. Phys.* 69, 84 S. (1956), zit. McDermott (89)
- Valentine, F. C. O.: „The survival of bacterial species under bacteriostasis“. *Lancet* 589 (1956)

- Walker, S. H.: „A Study of the possible interference of chloramphenicol with Penicillin in acute streptococcal pharyngitis“. *Antibiot. Chemother.* N. Y. S. 677 (1953), zit. Dowling (26)
- Wardlaw, A. C. and Pillemmer, L.: „The demonstration of the bactericidal activity of the properdin system“. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 66, S. 244 (1956)
- v. Wasilewski, E., und Knick, B.: „Experimenteller Beitrag zur Cortisonwirkung am Tier nach Inokulation pathogener und apathogener Mikroorganismen“. *Z. ges. exp. Med.* 129, S. 548 (1958)
- v. Wasilewski, E., Albrecht, J. und v. Graevenitz, A.: „Zur Persistenz Antibiotika- sensibler Keime bei antibiotischer Behandlung“. *Arzneimittelforsch.* 10, S. 186 (1960)
- Wasz-Höckert, O., Oker-Blom, N. and Kosunen, T.: „The effect of zymosan on susceptibility to staphylococcal infections in mice“. *Ann. Med. exp. Fenn.* 34, S. 428 (1956)
- Wendt, F.: „Neue Ergebnisse der Pyrogenforschung“ *Dtsch. Med. Wschr.* 84, 2084 (1959)
- Werner, C. A., Knight, V. and McDermott, W.: „Studies of microbial populations artificially localized in vivo. I. Multiplication of bacteria and distribution of drugs in agar loci“. *J. clin. Invest.* 33, S. 742 (1954)
- Weyer, F.: „Rückfälle bei Fleckfieber und Wolhynischem Fieber“ *Medizinische* 1267 (1954)
- Williamson, G. M.: „Dihydrostreptomycin and anaerobiosis. Indirect evidence for two sites of action of dihydrostreptomycin“. *J. gen. Microbiol.* 19, S. 584 (1958), zit. McDermott (91)
- Wittler, R. G.: „The L-Form of *hemophilus pertussis* in the mouse“, *J. gen. Microbiol.* 6, S. 311 (1952), zit. McDermott (89)
- Wittler, R. G., Cary, S. G. and Lindberg, R. B.: „Reversion of a pleuropneumonia like organism to a corynebakterium during tissue culture passage“. *J. gen. Microbiol.* 14, S. 763 (1956), zit. McDermott (89)
- Wood, W. B. and Smith, M. R.: „An experimental analysis of the curative action of Penicillin in acute bacterial infections: I. The relationship of bacterial growth rates to the antimicrobial effect of Penicillin“. *J. exp. Med.* 103, S. 487 (1956). III. The effect of suppuration upon the antibacterial action of the drug“. *J. exp. Med.* 103, S. 509 (1956)
- Woodward, T. E., Smadel, J. E., Parker R. J. and Wisseman C. L.: „Treatment of typhoid fever with antibiotics“. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 55, S. 1043 (1952)
- Wyss, O.: „Symposium on the mode of action of antibiotics“. *Bact. Rev.* 17, S. 17 (1953)
- Young, G.: „The process of invasion and the persistence of *candida albicans* injected intraperitoneally into mice“. *J. infect. dis.* 102, S. 114 (1958).

Lebenslauf

Ich wurde am 17. Oktober 1933 in Breslau geboren. Meine Eltern sind der Inspektor Ernst Kirsten und seine Ehefrau Cläre geb. Czekalla. Nach 4jährigem Volksschulbesuch trat ich 1944 in die General Litzmann-Schule in Cosel O/S. ein. Von 1946 bis 1951 besuchte ich die Thomasschule in Leipzig, im Anschluß daran das Stefan George Gymnasium in Bingen/Rhein. Hier bestand ich 1954 die Reifeprüfung. Im gleichen Jahr wurde ich an der medizinischen Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz immatrikuliert. Meine Studien mußte ich für 2 Jahre unterbrechen, da mein Vater verstarb. Im August 1958 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, im Januar 1962 das medizinische Staatsexamen in Mainz.

Herrn Prof. Dr. med. E. v. Wasielewski, Oberarzt des Hygiene-Instituts, möchte ich für die Überlassung des Themas, sowie für seine freundlichen Hinweise und für die Beseitigung so mancher Schwierigkeiten recht herzlich danken.

Herrn Dr. med. A. v. Graevenitz bin ich für die rege Unterstützung meiner Arbeit in so vielfacher Weise zu großem Dank verpflichtet.

Ebenso herzlich danke ich dem Herrn Direktor des Hygiene-Instituts, Herrn Prof. Dr. Kliewe, für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferates.

